

食品着色料とベールの法則

飲料の青色は何ですか？

はじめに

光の色

私たちが見ている白色光は、スペクトルのすべての色が混ざったものです。私たちは、雨滴が白色光を散乱させて虹を形成するのを見たり、太陽光がカットガラスやプリズムによって散乱され、壁に光の「虹」を映す様子を見ることに慣れていますが、白とは対照的に、物質に色が付いていると知覚するのは、あなたが見えている色以外の色が物質によって吸収されているからです。

化学溶液については、分光光度計を使用して溶液に光を通し、どの波長が吸収されるかを調べるためにスペクトルを測定します。可視スペクトルを円の形にして分光学的カラーホイールを作成することによって、吸収される波長を簡単なレベルで予測することができます。図1のようなホイールは、見えている色は吸収される色と反対側に位置する色であることを示しています。可視スペクトルの波長がどの色に対応しているかがわかっている場合、実験を行う前であっても、着色した色によってスペクトルのどの波長が吸収されるかを予測することが可能です。

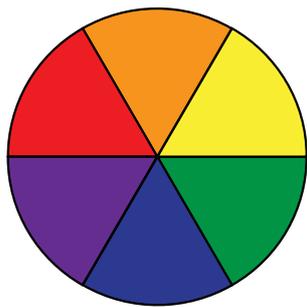


図1. カラーホイール

光の波長はナノメートル単位で測定されます。1 nmは 1×10^{-9} メートルです。図2の可視スペクトルは、どの波長がどの色の光に対応するかを示しています。

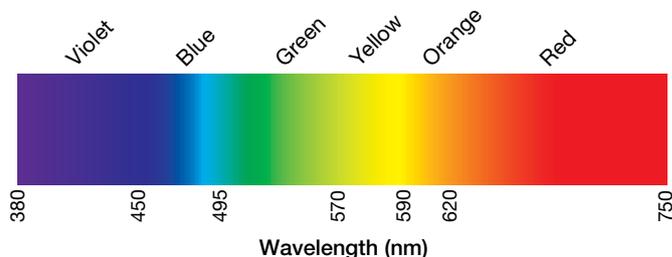


図2.可視スペクトル

紫外可視分光光度計

どの波長の光が物質によって吸収されるかを測定し、結果からその物質に関する有用な情報を得ることは、分光学の分野です。

可視スペクトルは電磁波の一部の領域で、化学実験室に一般的にある機器で測定することができます。スペクトル分析の基本原理は、紫外線、赤外線、高周波領域を調べる他の機器にも応用できます。

紫外可視分光光度計では、試料を含む溶液に光線を照射し、溶液を透過した光がどの程度の強度かを検出します。純溶媒を透過した光量と、試料を溶解したときに透過した光量を比較することによって、**吸光度**と呼ばれる量を計算できます。

吸光度は濃度に正比例するため、比例定数がわかれば、それを利用して溶液中の物質の濃度を計算することができます。「どれくらいの量?」という質問に答えられることは、紫外可視分光光度計が定量分析を行うためのツールであることを意味します。

どの波長の光が物質によって吸収されるかを正確に知ることにより、ある物質を別の物質から識別するために、またはサンプルが純物質であるか混合物であるかを決定するために使用できる情報を与えます。

「これは何の物質か?」の質問に答えられるということは、紫外可視分光光度計が定性分析を行うためのツールでもあることを意味します。

吸光度とベールの法則

着色溶液に白色光を照射すると、溶液はいくつかの波長の光を選択的に吸収します。吸光度がもっとも高い光の波長を分析波長として使用します。

特定の溶液の分析波長が決定されると、吸光度 (**A**) と三つの変数との関係を通して、溶液についてより多くを知ることができます:

$$A = \epsilon bc \quad \text{ベールの法則}$$

三つの変数は、溶液の濃度 (**c**)、溶液を通る光の光路長 (**b**)、および分析波長のエネルギーに対する吸収化合物の感度です。濃度をモル濃度で表し、光路長をセンチメートルで測定する場合、感度係数は、特定の化合物のモル吸光係数 (**ϵ**) となります。

紫外可視分光光度計は、二つのスケールのいずれかでデータを表示することができます:

- 線形目盛であるパーセント透過率 (**%T**)
- 対数目盛である吸光度 (**A**)

線形%Tスケールは、吸光度に変換することができ、ここでTは、小数で表される透過率 (たとえば22%=0.22) です:

$$A = -\text{Log}_{10} T$$

この対数関係のもっとも重要なポイントは、吸光度が1.0の場合、光線の全強度の10%のみが検出器に到達し、吸光度が2.0の場合、光線の1%のみが検出器に到達するということです。低コストの分光器は、高い吸光度では正確さと感度が低下するので、1.5より小さい吸光度範囲で使用するようになります。

透過率 (または%T) は、分光光度計を用いて、試料 (**I**) の測定により得られた検出器信号をブランク溶液 (**I_0**) の検出信号で除算することによって得られます。

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{透過率}$$

液体を通る経路が正確に1 cmであるキュベットまたは試験管を用いる場合、ベールの法則の「b」の値は単に1であるため、bは方程式から外すことができ、 $A = \epsilon c$ に単純化することができます。これにより、

- 既知濃度のいくつかの溶液の吸光度を測定し、y軸上の吸光度およびx軸上の濃度をプロットする場合、勾配は、溶液中の試料のモル吸光係数 (ϵ) になります。
- モル吸光係数がわかっている場合は、吸光度を ϵ で除算するだけで簡単に溶液の濃度 (c) を計算することができます ($c = A/\epsilon$)。

目的

この実験では、いくつかの食品着色料について種々の測定を行います。

1. Thermo Scientific™ GENESYS™ 分光光度計を使用して測定された可視スペクトルは、各サンプルによって吸収される波長を示します。スキャンモードで一つのピークまたは複数のピークを特定し、各ピークの波長を記録します。正式には、もっとも大きなピークの波長は「最大吸光度の波長」と呼ばれ、 λ_{max} (ラムダマックス) と略されます。

2. λ_{\max} で記録された単一点測定を使用して、溶液中の赤色、黄色、緑色および青色の食品着色料の濃度を計算します。溶液サンプルでどの化学色素が使用されたか、およびサンプルが単一の色素であるか、または混合物であるかを判断することができます。
3. 既知の濃度の原液が与えられた場合、溶液を希釈してベールの法則に従ったプロットを作成します。次にスポーツドリンクまたはソフトドリンクを選び、その中に含まれる青色No.1色素のモル濃度を決定します。この計算と色素のモル質量から、溶液591 mL中に含まれる青色No.1色素の質量を決定します。

実験

パート1. 色素溶液のスペクトルをスキャン

インストラクターは実験の前に、赤、黄、青、緑の色素を含むMcCormick®Food Coloring社の4種類の液体食品色素を使用して、色素溶液を調製しておく必要があります^[1]。色素溶液の実際の濃度は任意ですが、各溶液中の最大ピークが分光光度計の吸光度範囲内にあるように選択する必要があります。

1. GENESYSソフトウェアのスキャンメソッドを使用して、図1の設定で各色素溶液のスペクトルを取得します。ブランクとして水を使用します。
2. スペクトルの各ピークの波長 (λ_{\max}) と吸光度を記録します。色が色素の混合物による場合、二つの λ_{\max} ピークが存在します。
3. ラポレポートの5ページ、データ表1にこの情報を入力します。

データ分析:

McCormick社の食品着色料に使用されている色素の決定

付録の参照スペクトルを使用して、McCormick社の四つの着色料を作製するために、どの化学色素が使用されているかを決定します。いくつかの着色料は単一の色素であり、いくつかは色素の混合物です。ラポレポートのデータ表2に回答を記入します。

計算:各溶液中に存在する色素のモル濃度

ランベルト・ベールの法則 ($A = \epsilon bc$)、測定された吸光度値、および表1のモル吸光度の値を使用して、実験した四つの溶液に存在する各色素のモル濃度を計算します。

回答をデータ表2に記入してください。

光路長 (b) を知る必要があります。標準正方形のプラスチックキュベットを使用している場合、光路長は1 cmです。この値をラポレポートに記録します。

表1

| FD&C色素 | モル質量 (g·mol ⁻¹) | ϵ (L·cm ⁻¹ ·mol ⁻¹) |
|-----------------------------------|--------------------------------|--|
| 赤色3またはエリスロシン (チェリーレッド) | 898 | 31,000 |
| 赤色40またはアルラレッドAC (橙赤色) | 496 | 25,900 |
| 黄色5またはタルトラジン (レモンイエロー) | 534 | 27,300 |
| 黄色6サンセットイエロー (オレンジ色) | 452 | 25,900 |
| 緑色3ファストグリーンFCF (海緑色) | 809 | 43,000 |
| 青色1ブリリアントブルーFCF (ブライトブルー) | 793 | 130,000 |
| 青色2インジゴカルミン (ロイヤルブルー、インジゴカルミン) | 466 | 111,000 |



図1. スキャン設定

パート2. 青色No.1色素のベールの法則プロットを作成

着色溶液の吸光度とそのモル濃度との関係は何ですか？既知濃度の一連の標準溶液を調製し、 λ_{\max} における吸光度を測定し、データをプロットします。

原液の濃度を記録します： _____

(インストラクターによって与えられます)

希釈: 約40 mLの青色No.1色素原液を用意し、表2に従って希釈溶液を調製します。これらの溶液は、既知濃度の色素溶液になります。溶液のモル濃度を計算し、ラボレポートのデータ表3に記入します。濃度を μM 単位で報告します。図2の設定で定量メソッドを選択します。 λ には、以前に決定した λ_{\max} を入力します。五つの色素溶液の濃度を入力します。[校正]を選択し、水を使用して分光光度計をブランクにしてから、プロンプトに従って各標準溶液の吸光度を測定します。ラボレポートのデータ表3に吸光度の値を記録します。

表2

| 標準溶液 | 希釈比 (原液mL/水mL) |
|--------|-------------------|
| 1 (原液) | 10 mL/0 mL |
| 2 | 8 mL/ 2 mL |
| 3 | 6 mL/ 4 mL |
| 4 | 4 mL/ 6 mL |
| 5 | 2 mL/8 mL |

定量メソッドは、測定された吸光度の読み取り値と入力された濃度を使用して、ベールの法則プロットを自動的に作成します。ラボレポートに線の傾きを記録します。このプロットを使用してパート3を完了します。

パート3. その飲み物には何が入っていますか？



1. 青色の飲料約5 mLを用意します。
2. パート2で作成したベールの法則プロットを用いて、青色No.1色素の λ_{\max} における飲料の吸光度を測定し、その値をラボレポートに記録します。
3. GENESYSソフトウェアは、ベールの法則プロットを使用して青色No.1色素の濃度を自動的に計算します (図3)。
4. 飲料の591 mLボトルに含まれる色素の質量を計算します。
5. ラボレポートに計算と回答を記録します。

化学物質の処分:

食用色素はすべて、十分な水で流し台に廃棄することができます。

参考文献

1. Sigman SB, Wheeler DE (2004) The quantitative determination of food dyes in powdered drink mixes. A high school or general science experiment. *J Chem Educ* 81: 1475–1478.



図2. 定量メソッド設定



図3. ベールの法則プロット

ラボレポート

食品着色料とベールの法則

名前: _____

日付: _____

セクション番号または実験期間: _____

パート1. 色素溶液のスペクトルをスキャン

データ表1

| 溶液の色 | λ_{\max} (nm) | 吸光度 |
|------|-----------------------|-----|
| 赤 | | |
| 黄 | | |
| 緑 | | |
| 青 | | |

キュベットの光路長を記録します: _____ cm

データ表2

| 溶液の色 | 溶液に含まれる色素 | 単一色素か混合物か | 濃度 (mol/L) |
|------|-----------|-----------|------------|
| 赤 | | | |
| 黄 | | | |
| 緑 | | | |
| 青 | | | |

質問

- λ_{\max} で青色溶液に吸収される光の波長は何ですか？
- 「はじめに」の情報を使用して、これが可視光スペクトルで対応する光の色を決定します。
- 着色溶液によって吸収される光の色は、その知覚される色とどのように関連していますか。これら二つの間に関係はありますか？

- 表に記載されている色素のいずれか二つについて濃度計算を示してください。色素の名前で計算にラベルを付け、答えを囲み、きれいに書きましょう!!

パート2. 青色No.1色素のベールの法則プロットを作成

データ表3

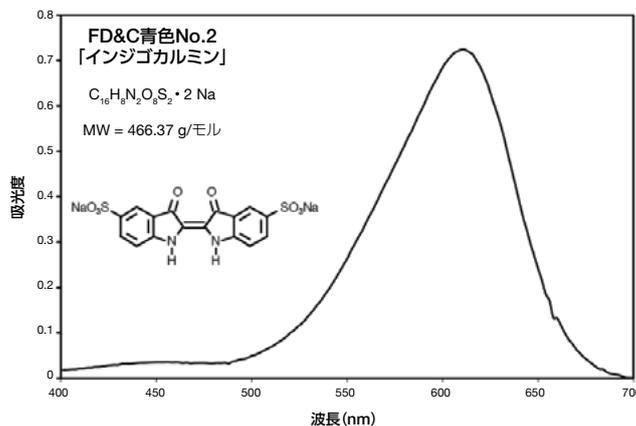
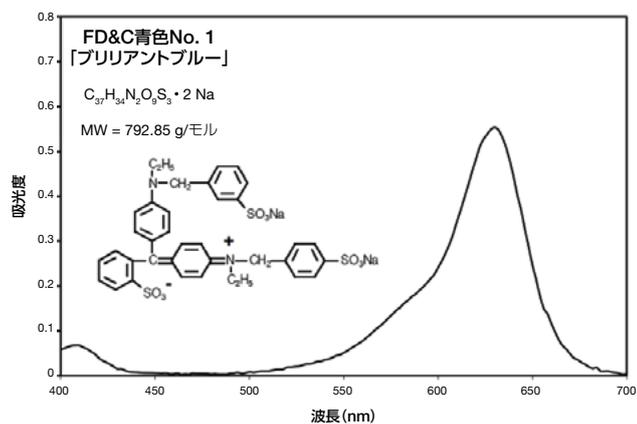
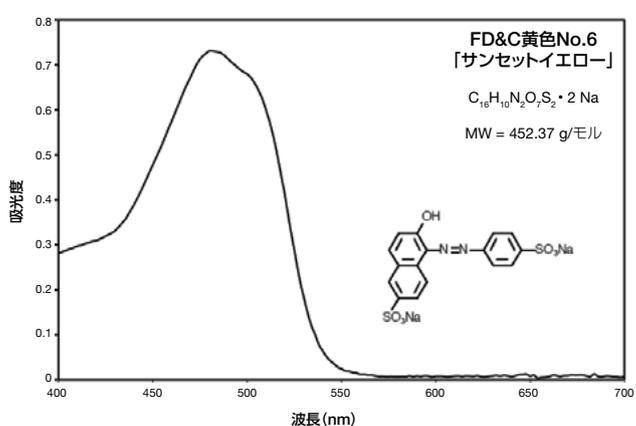
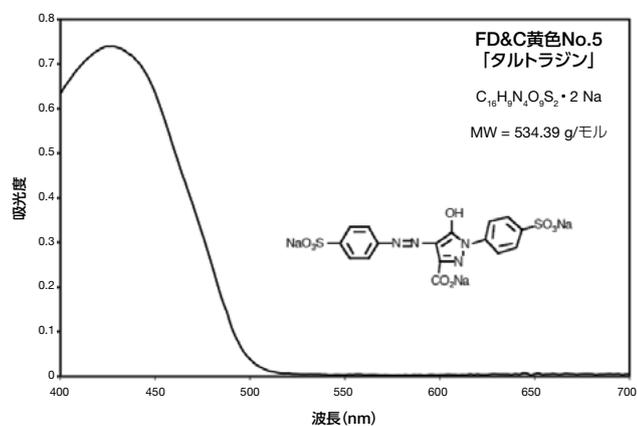
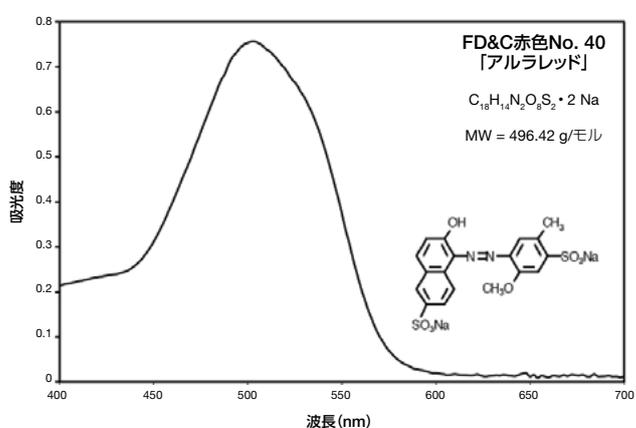
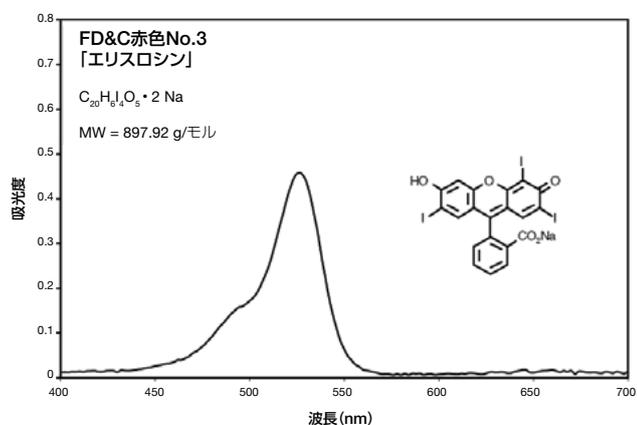
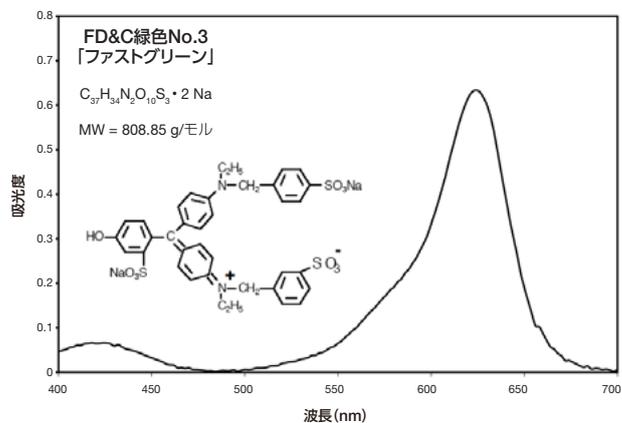
| 溶液 | 希釈比 (原液mL / 水mL) | モル濃度 (μM) | 測定吸光度 |
|--------|------------------|------------------------|-------|
| 1 (原液) | 10 mL/0 mL | | |
| 2 | 8 mL/2 mL | | |
| 3 | 6 mL/4 mL | | |
| 4 | 4 mL/6 mL | | |
| 5 | 2 mL/8 mL | | |

青色No.1色素の吸光度と濃度のプロット (ベールの法則プロット) のプリントアウトをこのラボレポートにホチキス留めし、必要なデータと回答を以下のスペースに記録します。

- 最適線の傾きを記録します: _____

付録

FDA食品着色料の参照スペクトル





GENESYS50UV 紫外可視分光光度計

詳細はこちら thermofisher.com/genesys

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. 無断複写・転載を禁じます。 UV031-A2008OB
ここに記載の会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。
また、記載されている製品は研究用機器であり、診断目的およびその手続き上での使用はできません。
記載の価格は 2020 年 8 月現在のメーカー希望小売価格です。消費税は含まれておりません。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
実際の販売価格は、当社販売代理店までお問い合わせください。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC